

①⑨ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑪ **DE 3805744 A1**

⑤① Int. Cl. 4:
C07 C 125/067
C 07 C 59/255
A 61 K 31/325

②① Aktenzeichen: P 38 05 744.1
②② Anmeldetag: 24. 2. 88
④③ Offenlegungstag: 15. 9. 88

Behördeneigentum

DE 3805744 A1

③⑩ Innere Priorität: ③② ③③ ③①
04.03.87 DE 37 06 914.4

⑦① Anmelder:
Sandoz-Patent-GmbH, 7850 Lörrach, DE

⑦② Erfinder:
Enz, Albert, Basel, CH

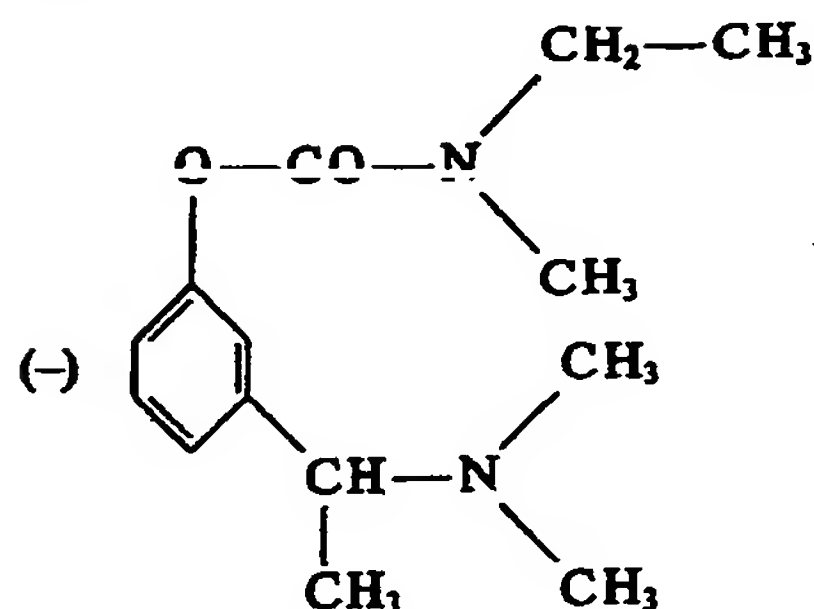
⑤④ Phenylcarbamat

Das (S)-N-Aethyl-3-[(1-dimethylamino)äthyl]-N-methyl-phenyl-carbamate als freie Base oder in Form des Säureadditionssalzes ist nützlich als Pharmazeutikum, insbesondere zur systemischen transdermalen Verabreichung.

DE 3805744 A1

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von (S)-N-Aethyl-3-[(1-dimethylamino)äthyl]-N-methyl-phenyl-carbamat der Formel I



in Form der freien Base oder als Säureadditionssalz, dadurch gekennzeichnet, daß man die Enantiomere aus dem entsprechenden Racemat trennt und die resultierende Verbindung der Formel I in Form der freien Base oder als Säureadditionssalz gewinnt.

2. Ein Verfahren nach Anspruch 1, zur Herstellung des Hydrogentartrates der Verbindung der Formel I.

3. Eine Verbindung der Formel I in Form der freien Base oder als Säureadditionssalz wie in Anspruch 1 definiert.

4. Das Hydrogentartrat des (S)-N-Aethyl-3-[(1-dimethylamino)-äthyl]-N-methyl-phenyl-carbamates.

5. Eine Verbindung nach Anspruch 3 oder 4 in einer pharmazeutisch akzeptablen Form zur Anwendung als Pharmazeutikum.

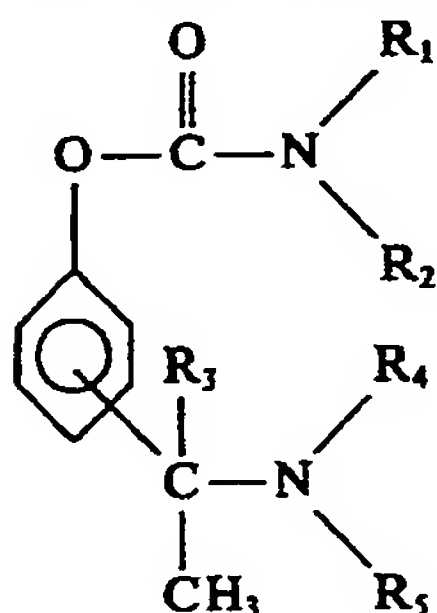
6. Eine Verbindung nach Anspruch 3 oder 4 in einer pharmazeutisch akzeptablen Form zur Anwendung bei der Behandlung von seniler Demenz.

7. Eine Verbindung nach Anspruch 3 oder 4 in einer pharmazeutisch akzeptablen Form zur Anwendung bei der Behandlung von Alzheimer's Disease.

8. Eine Verbindung nach Anspruch 3 oder 4 in einer pharmazeutisch akzeptablen Form zur Anwendung bei der Behandlung von Huntington's Chorea, tardive Dyskinesien, Hyperkinesie, Manie, akute Verwirrungsstände, Down's Syndrom oder Friedrich's Ataxie.

9. Eine pharmazeutische Zusammensetzung enthaltend eine Verbindung nach Anspruch 3 oder 4 in einer pharmazeutisch akzeptablen Form, mit einem pharmazeutischen Träger oder Verdünnungsmittel.

10. Eine pharmazeutische Zusammensetzung zur systemischen transdermalen Verabreichung, enthaltend eine Verbindung der Formel I',



(I')

worin

R₁ Wasserstoff, Niederalkyl, Cyclohexyl, Allyl oder Benzyl,
 R₂ Wasserstoff, Methyl, Aethyl oder Propyl bedeuten, oder
 R₁ und R₂ zusammen mit dem Stickstoff, an dem sie gebunden sind, ein Morpholino- oder Piperidinoradikal bilden,
 R₃ Wasserstoff oder Niederalkyl bedeutet,
 R₄ und R₅ gleich oder verschieden sind und jedes Niederalkyl bedeutet und die Dialkylaminoalkylgruppe sich in meta-, ortho- oder para-Stellung befindet,

als freie Base oder in Form eines pharmazeutisch akzeptablen Säureadditionssalzes, mit einem pharmazeutischen Träger oder Verdünnungsmittel, die geeignet sind für eine systemische transdermale Verabreichung.

11. Eine pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 10, worin die Verbindung der Formel I' das (S)-N-Aethyl-3-[(1-dimethylamino)-äthyl]-N-methyl-phenyl-carbamat als freie Base oder in Form eines pharmazeutisch akzeptablen Säureadditionssalzes ist.

12. Eine pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 10, worin die Verbindung der Formel I' das

(S)-N-Aethyl-3-[(1-dimethylamino)-äthyl]-N-methyl-phenyl-carbamat in Hydrogentartratform ist.

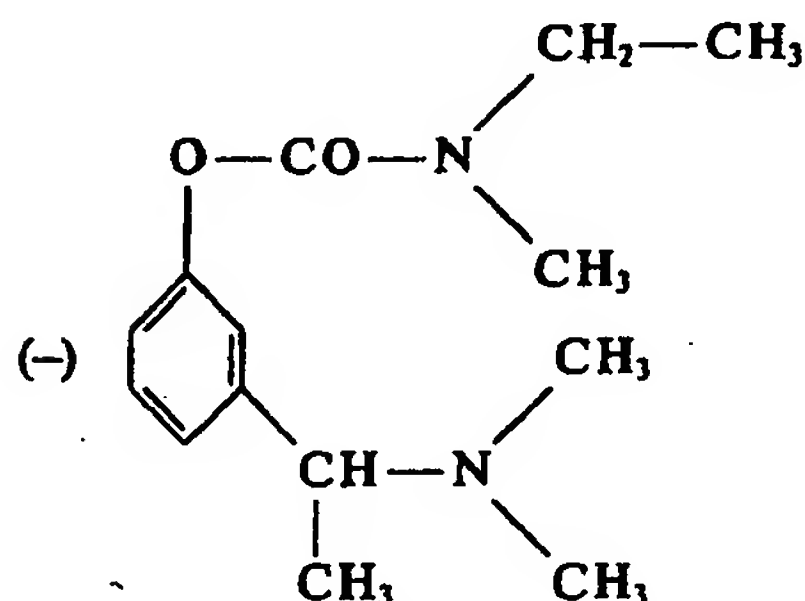
13. Eine pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 10, worin die Verbindung der Formel I' das (S)-N-Aethyl-3-[(1-dimethylamino)-äthyl]-N-methyl-phenyl-carbamat als freie Base oder in Form eines pharmazeutisch akzeptablen Säureadditionssalzes ist.

14. Die Anwendung einer Verbindung der Formel I' wie in Anspruch 10 definiert als freie Base oder in Form eines pharmazeutisch akzeptablen Säureadditionssalzes als aktiver Wirkstoff bei der Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung, die geeignet ist für die systemische transdermale Anwendung.

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein neues Phenylcarbamat mit anticholinesterase Wirkung.

Insbesondere betrifft die Erfindung das (S)-N-Aethyl-3-[(1-dimethylamino)äthyl]-N-methyl-phenyl-carbamate der Formel I



in Form der freien Base oder als Säureadditionssalz.

Wie aus dieser Formel ersichtlich ist, ist in Form der freien Base das Kennzeichen der Rotation der Verbindung der Formel I (-). Jedoch kann es in Form des Säureadditionssalzes (+) oder (-) sein. Zum Beispiel ist das Kennzeichen der Rotation des Hydrogentartrates (+). Die vorliegende Erfindung deckt unabhängig von ihrem Rotationskennzeichen die freie Basenform wie auch die Säureadditionssalzformen.

Die racemische Mischung (\pm)-N-Aethyl-3-[(1-dimethylamino)äthyl]-N-methyl-phenyl-carbamate in Form ihres Hydrochlorides ist aus der Europäischen Patentanmeldung 1 93 926 bekannt, wo es als RA₇HCl identifiziert ist.

In Übereinstimmung mit dieser Offenbarung wird das Racemat in Form der freien Base durch Amidierung von α -m-Hydroxyphenyläthyl-dimethylamin mit einem entsprechenden Carbamoylhalogenid erhalten. Die resultierende Verbindung und ihre pharmakologisch akzeptablen Säureadditionssalze, die auf bekannte Weise aus der freien Base hergestellt werden können, sind als Acetylcholinesterasehemmer im ZNS offenbart.

Es wurde nun überraschenderweise gefunden, daß das (-)-Enantiomere der Formel I und seine pharmakologisch akzeptablen Säureadditionssalze, im nachstehenden als Verbindungen laut vorliegender Erfindung bezeichnet, eine besonders ausgeprägte und selektive Hemmung der Acetylcholinesterase aufweisen.

Diese Befunde sind unerwartet, besonders da man nicht glaubte, daß die Dialkylaminoalkylseitenkette, welche das optisch aktive Zentrum enthält, zur Hauptsache verantwortlich ist für die Acetylcholinesterasehemmungsaktivität der Phenylcarbamate.

Die Verbindungen laut vorliegender Erfindung wurden bisher in der Literatur nirgends spezifisch offenbart. Die freie Base kann aus dem Racemat durch Trennung der Enantiomere in Übereinstimmung mit bekannten Methoden, z. B. durch Verwendung von Di-0,0'-p-toluol-weinsäure, hergestellt werden. Die Säureadditionssalze können auf an sich bekannte Weise aus der freien Base hergestellt werden. Diese schließen beispielsweise das Hydrogentartrat ein.

Die Verbindungen laut vorliegender Erfindung zeigen pharmakologische Wirkung wie in Standardtests angezeigt wird und sind daher nützlich als Pharmazeutika. Sie erreichen das ZNS rasch nach s. c., i. p. oder p. o. Verabreichung in Ratten. Sie üben eine Gehirnregion selektive Hemmung der Acetylcholinesteraseaktivität aus, wobei Hippocampus und corticale Enzyme mehr gehemmt werden als aus dem Striatum und Pons/Medulla entstandene Acetylcholinesterase. Überdies haben sie eine lange Wirkungsdauer.

Zum Beispiel veranschaulichen die folgenden Resultate das pharmakologische Profil der Verbindungen laut vorliegender Erfindung im Vergleich mit den entsprechenden Isomeren und Racematen. Verbindung A ist die Verbindung der Formel I in Form ihres Hydrogentartrates. Verbindung B ist das optische Isomere des genannten Salzes. C bezeichnet die racemische Mischung der Verbindung der Formel I und ihres optischen Isomeres in Form des Hydrochlorides.

In vitro Versuche

Elektrisch hervorgerufene ³H-Acetylcholin-Freisetzung aus Hippocampusschnitten der Ratte

Elektrisch hervorgerufene ³H-Acetylcholin-(³H-ACh)-Freisetzung aus Hippocampusschnitten der Ratte ist ein zweckmäßiges in vitro Modell zur Untersuchung präsynaptischer muscarinischer Autorezeptor-Agonisten und -Antagonisten. Dieses Modell kann auch verwendet werden als eine indirekte Methode zur Auswertung von

Arzneimitteln, die Acetylcholinesterase (AChE) hemmen. Die Hemmung der AChE-Aktivität führt zur Anhäufung von endogenem ACh, welches dann mit präsynaptischen muscarinischen Autorezeptoren aufeinander einwirkt und die weitere Freisetzung von ^3H -ACh hemmt.

Ratten-Hippocampusschnitten (Wistar Stamm, 180–220 g) werden hergestellt durch kreuzweises Zerhacken ganzer Hippocampusschnitten mit einem McIlwain-Gewebezerhacker in einem Abstand von 0,3 mm. Hippocampusschnitte, die von 3 Ratten erhalten werden, werden während 30 Minuten bei 23°C in 6 ml Krebs-Ringer, enthaltend 0,1 μCi ^3H -Cholin, inkubiert und in die Superfusionskammer übertragen. Die Superfusion findet mit Krebs Medium, enthaltend 10 μM Hemicholinium-3 bei einer Rate von 1,2 ml/Min. bei 30°C statt. Die Sammlung von 5 Minuten Fraktionen des Superfusates beginnt 60 Minuten nach der Superfusion. Zwei Perioden elektrischer Stimulation (2 Hz rechteckige Impulse 2 msec, 10 mA, 2 Min.) werden nach 70 Minuten (S_1) und nach 125 Minuten (S_2) Superfusion angewendet. Die Testsubstanzen werden 30 Minuten vor S_2 hinzugefügt und sind anwesend im Superfusionsmedium bis 145 Minuten Superfusion. Am Ende der Versuche werden die Schnitte in konzentrierter Ameisensäure gelöst und der Tritiumgehalt im Superfusat und in den gelösten Schnitten bestimmt. Der Tritiumabfluß wird ausgedrückt als Bruchteil des Tritiumabflusses pro Minute. Elektrisch hervorgerufener Tritiumabfluß wird berechnet durch Subtraktion des extrapolierten basalen Tritiumabflusses vom totalen Tritiumabfluß während den zwei Minuten der elektrischen Stimulation und den folgenden 13 Minuten und wird ausgedrückt als Prozent des Tritiumgehaltes zu Beginn der Probensammlung. Arzneimittelwirkungen bei durch Stimulierung hervorgerufenem Tritiumabfluß werden als Verhältnisse S_2/S_1 ausgedrückt. Alle Versuche werden im Doppel ausgeführt, wobei ein programmierbares 12 Kanal-Superfusionssystem verwendet wird. Für die Berechnung wird ein Computerprogramm verwendet.

Bei diesem Test hemmt Verbindung A elektrisch hervorgerufene ^3H -ACh-Freisetzung aus Hippocampusschnitten in ungefähr 40% (100 μM), währenddem Racemat C (100 μM) in ungefähr 25% hemmt. Die Hemmefekte der Verbindung A und Racemates C können durch Atropin antagonisiert werden. Diese Resultate stehen im Einklang mit AChE-Hemmwirkungsaktivität. Die Verbindung B ist inaktiv in diesem Modell.

Acetylcholinesterasehemmung in verschiedenen Regionen des Rattenhirns

In diesem Test werden AChE-Präparate aus verschiedenen Regionen des Rattenhirns (Cortex, Hippocampus und Striatum) verwendet und die IC_{50} (Hemmkonzentrationen in μM) bestimmt. Die Enzympräparate werden 15 Minuten vor der Bestimmung mit dem Inhibitor präinkubiert.

Die AChE-Aktivität wird entsprechend der durch Ellman (Arch. Biochem. Biophys. 82, 70, 1959) beschriebenen Methode gemessen. Das Rattenhirngewebe wird in kaltem Phosphatpuffer pH 7,3 (0,25 mM), enthaltend 0,1% Triton X-100, homogenisiert. Nach der Zentrifugation werden Aliquots des Klarobenaufschwimmenden als Enzymquelle verwendet. Das Enzym wird mit verschiedenen Konzentrationen des Inhibitors präinkubiert. Nach verschiedenen Zeiten wird das Substrat (Acetylthiocholinjodid 0,5 mM) hinzugefügt und die übrigbleibende Aktivität gemessen.

Die Resultate sind aus der nachstehenden Tabelle 1 ersichtlich:

Tabelle 1

IC_{50}	Cortex	Hippocampus	Striatum
Verbindung A	2,8	3,7	3,0
Verbindung B	16,1	14,5	13,8
Racemat C	3,2	3,9	3,2

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich ist, ist die AChE-Hemmung mit Verbindung A etwas höher als mit Racemat C, währenddem Verbindung B signifikant weniger aktiv ist.

Acetylcholinesterasehemmung ex vivo in verschiedenen Regionen des Rattenhirns

30 Minuten nach Verabreichung von verschiedenen Dosen der Verbindung A wird die AChE-Aktivität in verschiedenen Regionen des Rattenhirns ex vivo gemessen. Die Methode wird oben beschrieben. Die gefundenen IC_{50} -Werte sind 7 $\mu\text{mol/kg}$ p. o. im Striatum, 4 $\mu\text{mol/kg}$ p. o. im Hippocampus und 2 $\mu\text{mol/kg}$ p. o. im Cortex. Die nach der Verabreichung des Racemates C erhaltenen IC_{50} sind für alle geprüften Regionen 2 bis 3mal höher. Sechs Stunden nach Verabreichung der Verbindung A (10 $\mu\text{mol/kg}$ p. o.) ist das AChE im Striatum immer noch um 16% gehemmt, währenddem zur gleichen Zeit die Aktivitäten im Cortex und Hippocampus um 39% bzw. um 44% gehemmt sind.

In vivo Versuche

Beeinflussung des Dopaminmetabolismus

Männliche OFA-Ratten (150–200 g) werden sowohl für akute als auch für subchronische Experimente verwendet. Die Tiere werden während 12 Stunden Perioden von Licht und Dunkelheit gehalten. Die Tiere werden immer zwischen 11.00 und 13.00 Uhr getötet. Die Hirne werden sofort herausgeschnitten, hierauf nach

der Methode von GLOWINSKI und IVERSEN, J. Neurochem. 13, 655 (1966) auf Eis seziert, auf trockenem Eis gefroren und die Gewebeproben bis zur Analyse bei -80°C gelagert.

Dopamin und seine Metaboliten DOPAC (3,4-Dihydroxyphenylelessigsäure) und HVA (Homovanillinsäure) werden in Hirngewebeextrakten bestimmt. Diese werden erhalten durch Homogenisierung von gelagerten Hirngewebsproben in 0,1 N HCl, enthaltend 0,05 mM Ascorbinsäure, und nachfolgender Zentrifugation. Es werden striatale und corticale Gewebe verwendet.

Die Bestimmung der Metabolite wird ausgeführt entweder unter Anwendung der Gaschromatographie/Massenfragmentographie (GCMS)-Technik beschrieben von KAROUM et al., J. Neurochem. 25, 653 (1975) und CATABENI et al., Science 178, 166 (1972) oder der fluorometrischen Methode wie von WALDMEIER und MAITRE, Analyt. Biochem. 51, 474 (1973) beschrieben wurde. Für die GCMS-Methode werden Gewebsextrakte hergestellt durch Zugabe bekannter Mengen deuterierter Monoamine und ihrer jeweiligen Metabolite als interne Standard.

Der Dopaminmetabolismus im Striatum ist nach Verabreichung der Verbindungen A und B und des Racemates C erhöht (Diese Eigenschaft ist eine Folge der durch die genannten Verbindungen hervorgerufene Acetylcholinakkumulation.). Dennoch ist Verbindung A aktiver als Verbindung B und Racemat C beim Erhöhen der striatalen Dopaminmetaboliten-Konzentrationen.

Muscarin- und Nikotinwirkungen auf die Hirn-glukoseverwertung

Änderungen bei der funktionellen Aktivität des ZNS sind verbunden mit einer veränderten Desoxyglukose (DOG)-Verwertung im Gehirn. Diese können gleichzeitig in verschiedenen Regionen des Gehirns sichtbar gemacht werden bei Anwendung der autoradiographischen Methode von Sokoloff et al., J. Neurochem. 28, 897 (1977). Die Verabreichung von cholinergischen Wirkstoffen entweder direkt (Muscarinagonisten) oder indirekt (Anhäufung von Acetylcholin) bewirkt in diesem Modell ein charakteristisches "Fingerdruck"-Muster durch Änderung des regionalen Glukosemetabolismus.

Männliche Wistar-Ratten (150–200 g) werden verwendet. Die Wirkstoffe werden den Tieren in verschiedenen Dosen und auf verschiedenen Wegen (i. v., p. o., i. p.) verabreicht. $[14\text{C}]-2\text{-Desoxyglucose}$ ($125 \mu\text{C/kg}$) wird 45 Minuten bevor die Tiere getötet werden injiziert. Die Hirne werden umgehend herausgeschnitten, bei -80°C gefroren und anschließend in Scheiben mit einer Dicke von $20 \mu\text{m}$ geschnitten. Die optischen Dichten der radiographischen Bilder werden entsprechend einer Modifikation von Sokoloff et al. gemessen.

Nach p. o. Verabreichung der Verbindungen A und B ($7,5 \mu\text{mol/kg}$) werden signifikante Änderungen in der DOG-Verwertung in verschiedenen Regionen des Rattenhirns beobachtet. Die Wirkung der Verbindung A ist in den ersten 30 Minuten stärker als diejenige von Verbindung B. Die am meisten ausgeprägten Änderungen werden in den Gesichtsregionen und dem anteroventralen Thalamus wie auch im lateralen habenula Nucleus gefunden.

Acetylcholin-Spiegel in verschiedenen Regionen des Rattenhirns

Die Wirkungen der Verbindungen A und B und des Racemates C als AChE-Hemmer in vivo wird bestimmt durch Messung der ACh-Spiegel in verschiedenen Regionen des Rattenhirns zu verschiedenen Zeiten nach Verabreichung des Wirkstoffes.

OFA-Ratten (200–230 g) werden verwendet. Die Tiere werden getötet durch Mikrowellenbestrahlung eingestellt auf den Kopf (6 kW Betriebskraft 2450 Mhz Belichtung 1,7 Sek., Poeschner Mikrowellen-Energietechnik, Bremen). Die Gehirne werden entfernt, seziert nach Glowinski und Iversen (1966) und bis zur Analyse bei -70°C gelagert. Die Hirnteile werden homogenisiert in 0,1 M Perchlorsäure enthaltend intern deuterierte Standards von ACh- d_4 und Ch(cholin)- d_4 . Nach Zentrifugieren werden endogenes ACh und Ch zusammen mit ihren deuterisierten Varianten mit Dipicrylamin (2,2',4,4',6,6'-Hexanitrodiphenylamin) in Dichlormethan als Ionenpaare extrahiert. Die Ch-Teile werden mit Propionylchlorid derivatisiert und die resultierende Mischung von ACh- und Propylcholderivaten werden mit Natriumbenzolthiolat demethyliert und durch Massenfragmentographie nach Jenden et al., Anal. Biochem., 55, 438–448, (1973) analysiert.

Eine einmalige Verabreichung von $25 \mu\text{mol/kg}$ o. p. steigert die ACh-Konzentration in Striatum, Cortex und Hippocampus. Die maximale Wirkung wird ungefähr 30 Minuten nach der oralen Verabreichung erreicht und nimmt in den nächsten 3–4 Stunden ab. Im Cortex und Hippocampus sind die ACh-Spiegel bei 4 Stunden noch signifikant höher verglichen mit Kontrollen. Die Wirkungen sind dosenabhängig. Der Einfluß der Verbindung B ist signifikant schwächer als derjenige, der durch das Racemat C ausgelöst wird, und der Einfluß des Racemates C ist signifikant schwächer als derjenige, der durch die Verbindung A ausgelöst wird.

Ferner sind die Verbindungen der vorliegenden Erfindung angezeigt als gut verträglich und oral aktiv und sie haben eine lange Wirkungsdauer, z. B. in den obigen und anderen Standardtests.

Die Verbindungen laut vorliegender Erfindung sind daher nützlich zur Behandlung der senilen Demenz, Alzheimer's Disease, Huntington's Chorea, tardive Dyskinesien, Hyperkinesie, Manie, akute Verwirrungszustände, Down's Syndrom und Friedrich's Ataxie.

Eine indizierte tägliche Dosis liegt im Rahmen von ca. 0,1 bis ca. 25 mg, z. B. von ca. 0,1 bis ca. 5 mg, einer Verbindung der vorliegenden Erfindung, zusammen mit einem festen oder flüssigen Träger oder Verdünnungsmittel.

In Übereinstimmung mit den Vorstehenden sieht die Erfindung auch eine Verbindung laut vorliegender Erfindung vor zur Anwendung als Pharmazeutikum, z. B. zur Behandlung der senilen Demenz, Alzheimer's Disease, Huntington's Chorea, tardive Dyskinesien, Hyperkinesie, Manie, akute Verwirrungszustände, Down's Syndrom und Friedrich's Ataxie.

Die Erfindung sieht auch pharmazeutische Zusammensetzungen, enthaltend eine Verbindung laut vorliegender Erfindung vor, mit mindestens einem pharmazeutischen Träger oder Verdünnungsmittel. Solche Zusammensetzungen können auf konventionelle Weise hergestellt werden.

Im folgenden Beispiel sind die Temperaturen unkorrigiert und in Celsiusgraden angegeben.

5

Beispiel 1

(S)-N-Aethyl-3-[(1-dimethylamino)äthyl]-N-methyl-phenyl-carbammat

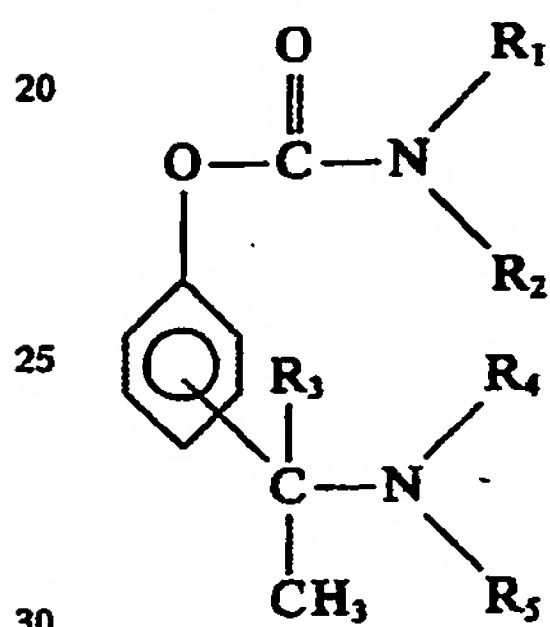
10 130 g (\pm)-N-Aethyl-3-[(1-dimethylamino)äthyl]-N-methyl-phenyldicarbamat und 210 g (+)-di-0,0'-p-Toluolweinsäure-monohydrat werden gelöst während Erhitzen in 1,3 Liter Methanol/Wasser (2 : 1). Nach der Kühlung wird das ausgefallene Salz filtriert und dreimal aus Methanol/Wasser (2 : 1) umkristallisiert. Das (S)-Enantiomere wird freigesetzt durch Verteilung zwischen 1 N NaOH und Aether.

$[\alpha]_D^{20} = -32,1^\circ$ (c = 5 in Aethanol).

15 Das Hydrogentartrat der Titelverbindung (aus Aethanol) schmilzt bei 123—125°.

$[\alpha]_D^{20} = +4,7^\circ$ (c = 5 in Aethanol).

Die vorliegende Erfindung betrifft ferner die systemische transdermale Anwendung der Phenylcarbamate der Formel I',



(I')

worin

- 35 R_1 Wasserstoff, Niederalkyl, Cyclohexyl, Allyl oder Benzyl,
 R_2 Wasserstoff, Methyl, Aethyl oder Propyl bedeuten, oder
 R_1 und R_2 zusammen mit dem Stickstoff, an dem sie gebunden sind, ein Morpholino- oder Piperidinoradikal bilden,
 R_3 Wasserstoff oder Niederalkyl bedeutet,
 40 R_4 und R_5 gleich oder verschieden sind und jedes Niederalkyl bedeutet und die Dialkylaminoalkylgruppe sich in meta-, ortho- oder para-Stellung befindet,

als freie Basen oder in Form von pharmazeutisch akzeptablen Säureadditionssalzen.

Die Verbindungen der Formel I' und ihre pharmazeutisch akzeptablen Säureadditionssalze wie auch ihre Herstellung und ihre Anwendung als Acetylcholinesterasehemmer sind aus der oben genannten Europäischen Patentanmeldung 1 93 926 bekannt.

Die Verbindungen der Formel I' schließen z. B. die oben definierte Verbindung A und das Racemat C ein.

Es wurde nun überraschenderweise gefunden, daß die Verbindungen der Formel I' als freie Basen oder in Form von pharmazeutisch akzeptablen Säureadditionssalzen, nachstehend als Verbindungen zur Verabreichung laut vorliegender Erfindung aufgeführt, eine unerwartet gute Hautpenetration aufweisen, wenn sie percutan verabreicht werden.

Das Durchdringen der Haut der Verbindungen zur Verabreichung laut vorliegender Erfindung kann in Standard in vitro oder in vivo Tests beobachtet werden.

Ein in vitro Test ist der gut bekannte Diffusionstest, der ausgeführt werden kann in Übereinstimmung mit den Prinzipien, wie sie in GB 20 98 865 A und durch T. J. Franz in J. Invest. Dermatol. (1975) 64, 194—195 aufgezeigt werden. Lösungen, die den aktiven Wirkstoff in unmarkierter oder radioaktiv markierter Form enthalten, werden auf eine Seite von isolierten Stücken intakter menschlicher Haut oder haarloser Rattenhaut auf einer Fläche von ca. 2 cm² angebracht. Die andere Seite der Haut ist in Kontakt mit physiologischer Kochsalzlösung. Die Menge an aktivem Wirkstoff in der Kochsalzlösung wird nach an sich bekannten Methoden gemessen, z. B. durch HPLC oder spektrophotometrischen Techniken, oder durch Bestimmung der Radioaktivität. Z. B. werden in diesem Test bei Verwendung von Rattenhaut die folgenden Penetrationsraten gefunden:

Vorstehend definierte Verbindung A: $23,6 \pm 14,9\%$
 Verbindung der Formel I in Form der freien Base: $28,0 \pm 8,2\%$

65

Weiterhin wurde gefunden, daß die transdermale Verabreichung der Verbindungen zur Verabreichung laut vorliegender Erfindung eine langandauernde und konstante Hemmung der Acetylcholinesterasewirkung verursacht wie in Standardtests angezeigt wird, mit langsamem Beginn der Wirkung, was im Hinblick auf die

Verträglichkeit dieser Verbindungen besonders vorteilhaft ist.

Zum Beispiel wurde die Acetylcholinesterasehemmung in verschiedenen Regionen des Rattenhirnes ex vivo gemessen nach transdermaler Verabreichung der Verbindungen zur Verabreichung laut vorliegender Erfindung und verglichen mit der Hemmung, wie sie nach Verabreichung auf verschiedenen Wegen erhalten wurde.

Die Verbindungen werden aufgelöst in oder verdünnt mit n-Heptan bis zu einer Konzentration von 1 oder 3 mg/20 µl. Männliche Ratten (OFA-Stamm, ca. 250 g) werden in der Nackenregion rasiert und die Lösung mit einer Mikropipette auf die Haut gebracht. Die Anwendungsstelle wird sofort mit einem dünnen Plastikfilm und einem Pflaster gedeckt. Das Tier hat keinen Zugang zum Pflaster. Zu verschiedenen Zeiten nach der Verabreichung werden die Tiere durch Enthauptung getötet und die verbleibende AChE-Wirkung gemessen.

Z. B. bewirkt die transdermale Verabreichung der oben definierten Verbindung A eine langandauernde, dosenabhängige Hemmung der AChE-Wirkung. Im Gegensatz zum raschen Beginn der Wirkung entweder nach oraler oder subcutaner Anwendung (max. 15 und 30 Minuten) tritt die AChE-Hemmung nach dieser Anwendungsroute (max. > 2 Stunden) nur langsam ein ohne die Hirnregion-selektive AChE-Hemmung zu beeinflussen.

Die Resultate sind aus der nachstehenden Tabelle 2 ersichtlich. 24 Stunden nach der transdermalen Anwendung ist die AChE-Wirkung immer noch in zentralen und peripheren Regionen gehemmt. Nach dem gleichen Zeitraum hat die oral verabreichte Verbindung A keine Wirkung auf das Enzym, währenddem nach der s. c. Verabreichung nur das Enzym im Herz signifikant gehemmt wird.

Tabelle 2

AChE-Aktivität in % der Kontrollen \pm SD

Zeit nach der Behandlung	n	Cortex	Hippocampus	Striatum	Pons/Medulla	Herz	Blut
Transdermal							
30 µmol/kg							
0,5 Stunden	6	86,1 \pm 5,6	86,7 \pm 5,9	89,7 \pm 8,4	91,5 \pm 3,8	109,0 \pm 9,3	71,3 \pm 12,3
6 Stunden	6	42,4 \pm 11,7	45,7 \pm 15,0	65,9 \pm 15,5	53,6 \pm 13,3	52,0 \pm 13,1	41,9 \pm 13,1
24 Stunden	6	73,8 \pm 5,7	80,4 \pm 8,8	81,0 \pm 8,2	85,3 \pm 4,2	63,9 \pm 12,5	78,1 \pm 17,8
Oral							
10 µmol/kg							
0,5 Stunden	6	21,0 \pm 3,5	19,7 \pm 3,8	32,9 \pm 10,7	26,6 \pm 4,0	71,2 \pm 11,2	34,0 \pm 2,0
6 Stunden	6	65,3 \pm 21,3	62,0 \pm 15,4	87,5 \pm 8,8	80,3 \pm 9,2	101,0 \pm 7,0	77,2 \pm 14,7
24 Stunden	6	99,2 \pm 8,9	97,2 \pm 7,1	96,7 \pm 3,3	104,1 \pm 6,8	94,2 \pm 9,2	97,2 \pm 13,8
Subcutan							
8 µmol/kg							
0,5 Stunden	6	16,8 \pm 2,0	18,3 \pm 3,1	28,2 \pm 12,2	20,9 \pm 2,9	33,3 \pm 5,6	17,4 \pm 4,1
6 Stunden	6	85,1 \pm 1,6	81,4 \pm 7,6	82,9 \pm 2,8	87,1 \pm 4,1	51,0 \pm 17,9	79,5 \pm 8,2
24 Stunden	6	93,8 \pm 5,9	99,9 \pm 9,9	91,0 \pm 2,3	98,7 \pm 6,0	65,7 \pm 21,2	105,7 \pm 16,8
Kontrollwerte (pmole/mg \times Min. \pm SD n = 15):							
Cortex:		3,67 \pm 0,30					
Pons/Medulla:		7,98 \pm 0,36					
Hippocampus:		4,42 \pm 0,30					
Herz:		2,27 \pm 0,39					
Striatum:		33,8 \pm 3,08					
Blut:		311,4 \pm 44,2					

Unter einem anderen Aspekt sieht die vorliegende Erfindung demnach eine pharmazeutische Zusammensetzung für die systemische transdermale Verabreichung vor, enthaltend eine Verbindung der Formel I' als freie Base oder in Form eines pharmazeutisch akzeptablen Säureadditionssalzes, mit einem pharmazeutischen Träger oder Verdünnungsmittel, welche geeignet sind für die systemische transdermale Verabreichung.

Außerdem sieht ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung die Anwendung einer Verbindung der Formel I' als freie Base oder in Form eines pharmazeutisch akzeptablen Säureadditionssalzes als Wirkstoff bei der Herstellung einer für die systemische transdermale Verabreichung geeigneten pharmazeutischen Zusammensetzung vor.

Die aktiven Wirkstoffe können in jeder konventionellen flüssigen oder festen transdermalen pharmazeutischen Zusammensetzung verabreicht werden, z. B. wie beschrieben in Remington's Pharmaceutical Sciences 16th Edition Mack; Sucker, Fuchs und Spieser, Pharmazeutische Technologie 1st Edition, Springer und in GB 20 98 865 A oder DOS 32 12 053.

Zweckmäßig liegt die Zusammensetzung in Form einer viskosen Flüssigkeit, einer Salbe, eines festen Reservoirs oder einer festen Matrix vor. Zum Beispiel wird der Wirkstoff durch ein festes Reservoir oder eine feste Matrix verteilt. Letztere werden aus einem Gel oder einem festen Polymer gemacht, z. B. einem hydrophilischen

Polymer wie in der Europäischen Patentanmeldung Nr. 1 55 229 beschrieben.

Der Wirkstoff kann auch in einem Pflaster eingebaut sein.

Die Zusammensetzungen für die transdermale Verabreichung können von ca. 1 bis ca. 20 Gewichtsprozent an aktivem Wirkstoff der Formel I' als freie Base oder in Form eines pharmazeutisch akzeptablen Säureadditionssalzes enthalten.

Die pharmazeutischen Zusammensetzungen für transdermale Verabreichung können für die gleichen Indikationen wie für die orale oder intravenöse Verabreichung verwendet werden. Die Menge des zu verabreichenden pharmazeutischen Wirkstoffes wird individuell abhängen von den Charakteristika der Wirkstofffreisetzung der pharmazeutischen Zusammensetzungen, der in in vitro und in vivo Tests beobachteten Penetrationsrate des Wirkstoffes, der Stärke des Wirkstoffes, dem Umfang der Hautkontaktfläche, dem Teil des Körpers, welcher mit der Formulierung belegt ist und der Dauer der verlangten Wirkung. Die Menge an aktivem Wirkstoff und die Fläche der pharmazeutischen Zusammensetzung usw. können bestimmt werden durch routinemäßig durchgeführte Bioverfügbarkeitstests, wobei die Blutspiegel des Wirkstoffes nach Verabreichung des Wirkstoffes auf unversehrte Haut in einer pharmazeutischen Zusammensetzung laut vorliegender Erfindung verglichen werden mit den Blutspiegeln des Wirkstoffes wie sie nach oraler oder intravenöser Verabreichung einer therapeutisch wirksamen Dose des pharmakologisch aktiven Wirkstoffes beobachtet werden.

Ist die tägliche Dose eines Arzneimittels für orale Verabreichung gegeben, so wird die Wahl einer geeigneten Menge des Arzneimittels, welches in einer transdermalen Zusammensetzung laut vorliegender Erfindung enthalten ist, abhängen von den pharmako-kinetischen Eigenschaften des Wirkstoffes, einschließlich des Leberpassageeffektes; von der Menge Arzneimittel, welches durch die Haut absorbiert werden kann von der in Frage stehenden Matrix für eine gegebene Anwendungsfläche und in einem gegebenen Zeitraum; und von dem Zeitraum, in dem die Zusammensetzung angewendet werden soll. So kann ein Arzneimittel mit einem hohen Leberpassageeffekt eine relativ kleine Menge in der transdermalen Zusammensetzung benötigen, verglichen mit der täglichen oralen Dosis, da der Leberpassageeffekt vermieden wird. Andererseits wird im allgemeinen ein Maximum von nur annähernd 50% des Arzneimittels in der Matrix durch die Haut in einer 3-Tage-Periode freigesetzt.

Die pharmazeutischen Zusammensetzungen laut vorliegender Erfindung haben im allgemeinen z. B. eine effektive Kontaktfläche des Arzneimittelreservoirs auf der Haut von ca. 1 bis ca. 50 Quadratzentimeter, vorzugsweise ca. 2 bis 20 Quadratzentimeter, und sollen angewendet werden während 1—7 Tagen, vorzugsweise 1—3 Tagen.

Zum Beispiel kann die Verbindung A in einer Dose von 10 mg auf einen Flecken von ca. 10 cm², einmal alle drei Tage verabreicht werden.

Das folgende Beispiel veranschaulicht die Erfindung.

Beispiel 2

Herstellung einer transdermalen Zusammensetzung, enthaltend ein hydrophilisches Polymer

Zusammensetzung:

Verbindung der Formel I', z. B. Verbindung A	20%
Hydrophilisches Polymer, z. B. Eudragit E 100 ^{*)}	30%
Nicht schwellendes Acrylatpolymer, z. B. Durotack 280—2416 ^{**)}	44%
Weichmacher, z. B. Brij 97 ^{***)}	6%

^{*)} Registrierte Handelsmarke, erhältlich durch Röhm, Darmstadt, W. Deutschland

^{**)} Registrierte Handelsmarke, erhältlich durch Delft National Chemie Zutphen, Holland

^{***)} Registrierte Handelsmarke, erhältlich durch Atlas Chemie, W. Deutschland

Die Komponenten werden Aceton oder Aethanol oder einem anderen geeigneten flüchtigen organischen Lösungsmittel zugegeben und gemischt, wobei eine viskose Masse, erhalten wird. Die Masse wird auf eine aluminisierte Polyesterfolie (23 Mikron dick) unter Verwendung eines üblichen Apparates verstreut, wobei ein Film von 0,2 mm Dicke (feucht) gebildet wird. Man läßt den Film bei Zimmertemperatur während 4 bis 6 Stunden trocknen. Die Aluminiumfolie wird dann in Stücke von ca. 10 Quadratzentimeter geschnitten.